

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/000927

International filing date: 31 January 2005 (31.01.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 005 054.6
Filing date: 31 January 2004 (31.01.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 13 May 2005 (13.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



EP/05/927

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 10 2004 005 054.6

Anmeldetag: 31. Januar 2004

Anmelder/Inhaber: Cavis microcaps GmbH, 55129 Mainz/DE

Erstanmelder: Dr. Rainer Pommersheim,
55116 Mainz/DE

Bezeichnung: Mikrokapsel mit steuerbarer Freisetzung zur
Immobilisierung von chemischen und/oder biologi-
schen Materialien sowie Verfahren zu ihrer Her-
stellung

IPC: B 01 J, C 08 J, A 61 K

Bemerkung: Die nachgereichte vollständige Seite 4 der Beschrei-
bung ist am 03. Februar 2004 eingegangen.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 23. April 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Faust

31.01.2004

Dr. Rainer Pommersheim
Kupferbergterrasse 21
55116 Mainz

**Mikrokapsel mit steuerbarer Freisetzung zur Immobilisierung von chemischen
und/oder biologischen Materialien sowie Verfahren zu ihrer Herstellung**

Zusammenfassung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Mikrokapsel insbesondere zur Immobilisierung von chemischem und/oder biologischem Material, sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung, die in konzentrierten Medien stabil ist, die jedoch bei Verdünnung des Mediums schon bei einer relativ geringen mechanischen Beanspruchung zerstört wird, wodurch das eingeschlossene Material freigesetzt wird. Dieses Material kann im Sinne der vorliegenden Erfindung sowohl eine chemische Substanz wie z.B. ein Wirkstoff oder ein Enzym usw. oder auch biologisches Material wie beispielsweise Mikroorganismen, Zellen oder Gemische davon sein.

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Mikrokapsel insbesondere zur Immobilisierung von chemischem und/oder biologischem Material, sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung, die in konzentrierten Medien stabil ist, die jedoch bei Verdünnung des Mediums schon bei einer relativ geringen mechanischen Beanspruchung zerstört wird, wodurch das eingeschlossene Material freigesetzt wird. Dieses Material kann im Sinne der vorliegenden Erfindung sowohl eine chemische Substanz wie z.B. ein Wirkstoff oder ein Enzym usw. oder auch biologisches Material wie beispielsweise Mikroorganismen, Zellen oder Gemische davon sein. Eine solche Kapsel besteht aus einem vorzugsweise kugelförmigen Kern, der das immobilisierte Material enthält, der von einer Hülle umgeben sein kann, die diesen Kern vollständig umschließt.

In der technologischen Praxis kommt es häufig vor, dass verschiedene Stoffe oder Organismen die bei Feuchtigkeit miteinander in Wechselwirkung treten und sich dadurch gegenseitig zerstören, in Gemische eingearbeitet werden müssen. Normalerweise werden die Komponenten einzelnen und in getrockneter Form eingearbeitet und das Gemisch in trockener Form aufbewahrt.

Will man ähnliche Gemische als Flüssigkonzentrate herstellen sind die Möglichkeiten sehr begrenzt. Entweder man verzichtet auf einige kritische Komponenten oder man nimmt nur relativ kurze Haltbarkeiten in Kauf.

Durch eine Verkapselung der kritischen Komponenten kann dieser Nachteil kompensiert werden, da dadurch gewährleistet wird, dass diese mit ihrem umgebenden Medium nicht mehr in Wechselwirkung treten. Die eingesetzte Verkapselungstechnik muss allerdings sicherstellen, dass das eingeschlossene Material bei Bedarf wieder freigesetzt wird, damit das Gemisch seine volle Wirkung entfalten kann.

Der Begriff „Verkapselung“ ist in der Fachliteratur sehr verbreitet. Im technischen Maßstab haben sich bisher hauptsächlich Verfahren durchgesetzt, bei denen erst Trägerpartikel hergestellt werden, die anschließend mit einem Wirkstoff beladen werden. Oft werden auch sogenannte Tauchverfahren, wie sie beispielsweise bei der Herstellung von Medikamenten oder Süßigkeiten eingesetzt werden, als Verkapselung bezeichnet, oder auch Sprühbeschichtungen wie sie in Chemischen oder Pharmazeutischen Industrie verbreitet sind. Hierbei werden Feststoffe durch Tauchen oder Besprühen mit einer Membran

überzogen. Für spezielle Anwendungen werden häufig auch Stoffe durch eine chemische Fällung in Gelpartikel eingeschlossen.

Es gibt auch zahlreiche Schutzrechte oder Schutzrechtsanmeldungen, die Mikrokapseln zum Gegenstand haben. So beschreibt beispielsweise die Offenlegungsschrift DE 196 44 343 A1 eine Mikrokapsel mit einem Durchmesser von einigen μm , die in einem Emulsionsprozeß hergestellt wird. Hier werden Öle oder in diesem Öl lösliche Stoffe in einem Grundstoff beispielsweise Alginat emulgiert und daraus in einem weiteren Emulsionsprozess 0,5 – 20 μm große Kapseln geformt, die dann in der Lebensmittel- oder Pharmaindustrie eingesetzt werden können. Diese Kügelchen eignen sich aber nicht zur Immobilisierung größerer Feststoffpartikel, oder gar lebender Zellen. Auch sind sie nicht für den den erfindungsgemäßen Zweck einsetzbar.

In der US – Patentanmeldung 4,389,419 wird ein ähnliches Verfahren zur Verkapselung von Ölen und öllöslichen Substanzen beschrieben. Ähnlich dem o.g. Schutzrecht wird hier eine Emulsion des Öls mit einem Grundstoff (Alginat) in einem ersten Schritt erzeugt. Allerdings werden in diesem Fall dem Alginat noch einige Füllstoffe beigemengt und die Kapseln durch Extrudieren durch eine Düse und Fällen in einem Fällbad geformt und nicht durch einen weiteren Emulsionsschritt. Diese Kapseln sind größer als die im ersten Schutzrecht beschriebenen. Bei höherer mechanischer Beanspruchung bluten die Kapseln aus, ähnlich einem ölgetränkten Schwamm, was sie ebenfalls von denen in der vorliegenden Erfindung beschriebenen unterscheidet.

Eine Klasse für sich sind sogenannte Membran – Kapseln. F. Lim und A. Sun beschreiben in der Zeitschrift „Science Band 210, Seiten 908-910, Jahrgang 1980 eine Kapsel mit einer semipermeablen Membran zur Immobilisierung von lebenden Zellen bei der der Kapselkern aus einer einzigen Schicht eines Poly-L-Lysin / Alginatkomplexes umgeben ist. Bei diesen Kapseln wird ein Austreten der Zellen aus dem Kapselkern verhindert. Jedoch können darin keine Moleküle von der Größe eines Enzyms oder kleiner eingeschlossen werden, da die Membran dafür durchlässig ist. Diese Membrankapsel eignet sich wegen ihrer relativ geringen mechanischen Stabilität darüber hinaus nicht zum Einsatz in technischen Prozessen.

In der Patentanmeldung DE 43 12 970.6 wird eine Membrankapsel beschrieben, die auch zur Immobilisierung von Enzymen und Proteinen geeignet ist. Hier ist der Kern, der das Immobilisat enthält mit einer mehrlagigen Hülle umgeben, wobei jede dieser Lagen der gesamten Hülle eine gewisse Eigenschaft verleiht. Über die vorteilhafte Wahl der

Hüllenpolymere kann die Durchlässigkeit der Membran so verringert werden, dass die Enzyme in der Kapsel bleiben, während die viel kleineren Substrate und Produkte die Membran passieren können. Diese Kapseln sind bei sehr unterschiedlichen Konzentrationen des umgebenden Mediums stabil. Die Membranen haben eine fest eingestellte, definierte Durchlässigkeit und verhindern so eine Freisetzung des eingeschlossenen Materials.

Die Patentschrift EP 0 782 853 B1 beschreibt eine Mikrokapsel deren Hülle aus mehreren speziellen Schichten aufgebaut ist. Mindestens eine dieser Schichten besteht aus einem Material, das als Funktion einer Innenkonzentration und/oder anderen physikalischen Größen seine Struktur und somit die Porengröße der Hülle verändert. Bei dieser Kapsel, bleibt der Kern immer erhalten. Lediglich die Hülle verändert ihre Durchlässigkeit, was zwar eine teilweise aber nicht eine vollständige Freisetzung des eingeschlossenen Materials ermöglicht.

Auch auf dem Gebiet der Waschmittel oder kosmetischen Erzeugnisse gibt es eine Reihe von Patenten und Schutzrechtsanmeldungen, die Produkte mit verkapselten Wirkstoffen beschreiben. Bei allen diesen Alle diese Schriften beschreiben jedoch Kapseln, die entweder für biologisches, lebendes Material völlig ungeeignet sind oder nur durch eine äußere relativ hohe Beanspruchung den eingeschlossenen Stoff freisetzen.

So sind beispielsweise aus der Offenlegungsschrift DE 22 15 441 wässrige, flüssige Geschirrspülmittel bekannt, die Kapseln aus den Polymeren Carrageenan, Polyvinylalkohol oder Celluloseether beinhalten bekannt. Die Polymere und die Elektrolyte sind so gewählt, dass die Stabilität der Kapseln im Mittel sowie deren Auflösung bei Verdünnung gewährleistet sind. Die verwendeten Polymere sind jedoch für die Verkapselung von lebendem Material nicht geeignet.

Die britische Patentschrift 1 471 406 betrifft flüssige, wässrige Waschmittel mit Kapseln mit einem Durchmesser von 0,1 bis 5 mm. Diese Kapseln sollen empfindliche Inhaltsstoffe temperatur-, lager und transportstabiler machen und diese erst unmittelbar vor oder während der Anwendung freisetzen. Die Inhaltsstoffe sind entweder ganz oder teilweise von den Kapseln eingeschlossen wobei die Kapseln nicht näher definiert sind.

Die deutsche Anmeldung DE 199 18 267 beschreibt ebenfalls flüssige Waschmittel mit verkapselten Inhaltsstoffen. Als Kapseln im Sinne dieser Erfindung sind sämtliche auf dem Markt angebotenen in tensidstabilen Sphären eingeschlossenen Materialien definiert. Eine Methode zur Herstellung der Kapseln wird jedoch nicht beschrieben.

Hiervon ausgehend liegt der Erfindung das Problem zugrunde eine Kapsel zu erzeugen, die sowohl leblose Stoffe als auch lebende Organismen enthalten kann. Gleichzeitig ist ihre mechanische Festigkeit so einstellbar, dass sie in technische Prozessen eingesetzt werden kann wobei sie in konzentrierten Medien stabil ist und bei Verdünnung des Mediums bei relativ kleiner mechanischer Belastung zerstört und so das eingeschlossene Material freigesetzt wird. Die Kapsel soll in einer Vielzahl von Medien verwendbar sein, diese nicht durch Ausbluten beeinträchtigen und gleichzeitig ohne Einbußen in ihrer Funktion, getrocknet werden können.

Erfindungsgemäß wird das Problem dadurch gelöst, dass in einem ersten Schritt eine Kapsel in Flüssigphase hergestellt wird, die das zu verkapselnde Material vollständig umschließt. In einem zweiten Schritt wird die Kapsel getrocknet. Anschließend wird sie in dem Konzentrat (z.B. Gel) mehrerer Stunden gelagert. Bei Verdünnung der Kapsel-Konzentrat Suspension bauen sich in der Kapsel so hohe Spannungen auf, dass eine leichte mechanische Beanspruchung zu ihrer Zerstörung und Freisetzung des eingekapselten Materials führt.

Der Kerngedanke der Erfindung besteht demnach darin, die Matrix aus der die Kapsel besteht erst zu trocknen und anschließend sie mit einem konzentrierten Medium zu tränken, so dass bei einer Verdünnung des Umgebungsmediums die Kapsel durch die im Inneren auftretenden Spannungen zerstört wird. Das Material, dass in der Kapselmatrix eingeschlossen ist wird dabei freigesetzt. Um ein Ausbluten des in der Kapsel befindlichen Materials während der Lagerung der Kapsel zu verhindern kann diese von einer Hüllmembran umgeben sein.

Bei geeigneter Wahl der Materialien und der Parameter des Herstellungsverfahrens können in einer solchen Kapsel eine Reihe unterschiedlicher Materialien eingeschlossen werden, wie beispielsweise:

- wasserlösliche oder wasserunlösliche Stoffe
- fette, Öle, Emulsionen oder Suspensionen
- Feststoffe
- lebende oder tote Zellen
- lebende oder tote Mikroorganismen
- Gemische aus einer oder mehreren oben genannten Klassen

Diese Kapsel ist wie folgt aufgebaut: Der Kapselkern besteht aus einer Grundsubstanz, aus der eine Matrix gebildet wird, in die das zu immobilisierende Material eingebettet ist. Diese

Grundsubstanz muß ein Stoff sein, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise kugelförmige poröse Partikel geformt werden können. Solche Substanzen können z.B. Na-Alginat aber auch Agarose oder Sephadex usw. sein.

Wenn durch die Kapsel beispielsweise Enzyme oder Öle, Emulsionen usw. oder auch lebende Zellen oder Organismen eingeschlossen werden sollen oder in allen anderen Fällen, bei denen eine bestimmte mechanische Stabilität der Kapsel eingestellt werden soll, ist es vorteilhaft, den Kapselkern mit einer zusätzlichen Membran zu umgeben. Diese Membran kann aus einem Polyelektrolytkomplex, der in mehrerer Lagen aufgebracht werden kann bestehen. Derartige Polyelektrolytkomplexe werden gebildet aus dem Zusammenwirken eines Polyanion und Polykations. Als Polyanion sind beispielsweise wasserlösliche Zellsederivate wie z.B. Carboxymethylcellulose, Cellulosesulfat oder auch Pectine, Alginat aber auch synthetische Polymere wie Polyacryl- oder Polymethacrylsäuren usw. zu verwenden. Als Polykation kommen vor allem Naturstoffe wie Chitosan aber auch synthetische Polymere wie Polyethylenimin oder Polydiethyldiallylammoniumchlorid in Betracht.

Die o.g. Membran kann aber auch durch ein direktes Beschichten mit verschiedenen Substanzen erzeugt werden. Dieses Beschichten kann entweder während einer eventuellen Trocknung der Kapseln erfolgen oder durch ein nachträgliches Coaten aufgebracht werden. Sollen die Kapseln im Lebensmittel- oder Pharmabereich eingesetzt werden kann diese Beschichtungssubstanz entweder beispielsweise Schellack oder eine andere für den jeweiligen Bereich zugelassene Substanz sein. Für den chemischen Bereich können dafür auch andere filmbildende Verbindungen wie z.B. Nitrocellulosederivate oder Polyvinylacetate usw. verwendet werden.

In manchen Fällen kann es auch von Vorteil sein, eine Kapsel durch eine Kombination der beiden o.g. Ansätze herzustellen. Bei einer derartigen Kapsel hätte man einen zusätzlichen Parameter um die Lagereigenschaften zu beeinflussen und ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials und/oder eine Wechselwirkung mit dem umgebenden Medium bei Lagerung zu verhindern wodurch ihre Zuverlässigkeit erhöht wird.

Ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Mikrokapsel stellt sich wie folgt dar:

In einem ersten Schritt wird in eine 1-2 % -ige Grundstofflösung, beispielsweise Na-Alginat- das zu verkapselnde Material eingeührt. Anschließend wird ein Füllstoff wie beispielsweise Quarzsand oder Kieselerde beigemischt, so dass das Gemisch anschließend einen Trockengehalt von z.B. ca. 20-40 % hat. Diese Mixtur wird dann in ein Fällbad eingetropft. Dieses Vertropfen kann durch jedes handelsübliche System erfolgen, dass gleichmäßige Tropfengrößen liefert. Beste Ergebnisse wurden mit sogenannten Zweistoffdüsen erzielt. Dies sind Düsen, bei denen der Tropfenabriß an den Kapillaren durch die die Mixtur gepresst wird durch einen konzentrischen Luftstrom erfolgt.

Das Fällbad kann eine 1-2 % -ige Salzlösung sein, die ein oder mehrere mehrwertige Metallionen enthält, wie z.B. Ca^{++} , Ba^{++} , usw. Setzt man dem Fällbad eine verdünnte Lösung eines Polykations zu, wie beispielsweise Polyethylenimin, Chitosan usw. entsteht zeitgleich mit dem Ausfällen eine dünne Membran, die ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials aus der Kapsel verhindert. Durch weiderholtes Umspülen dieser Kapsel mit unterschiedlich geladenen Polyelektrolytlösungen kann eine Membran aufgebaut werden, die der Kapsel eine der Anwendung entsprechende mechanische Festigkeit verleiht. Bei diesem Vorgang ist es von Vorteil, dass dieses Umspülen in Form einer Wirbelschicht erfolgt. Hierfür werden die Kapseln in einem geeigneten Gefäß von den Beschichtungslösungen mit einer Geschwindigkeit umspült, die groß genug ist die Kügelchen nicht nur zu verwirbeln sondern sie auch in Schwebe zu halten.

Anschließend werden die Kügelchen gewaschen und getrocknet. Das Trocknen kann mit handelsüblichen Trocknern erfolgen wobei die besten Ergebnisse mit Wirbelschicht- oder Vibrations-Chargentrocknern erzielt wurden. Der Feuchtigkeitsgrad nach der Trocknung soll nicht höher als 3-7 % betragen.

Nach dem Trocknen wird die Kapsel in dem konzentrierten Medium z.B. einem Gel mehrere Stunden gelagert. Beste Ergebnisse wurden bei einer Lagerung von über 24 Stunden erzielt. Verdünnt man nun dieses konzentrierte Medium (Gel) um den Faktor 5, 10, oder höher werden die Kügelchen zerstört und setzen das eingeschlossene Material frei.

Patentansprüche

1. Mikrokapsel insbesondere zum Immobilisieren von Feststoffen, Flüssigkeiten, Zellen, Mikroorganismen und/oder Gemischen aus diesen Materialien zum Einsatz in der Chemie, Lebensmitteltechnik, und/oder Pharmazie mit einem den zu immobilisierenden Stoff enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und vorzugsweise eine ihn umschließende Hülle, **dadurch gekennzeichnet** dass die Kapsel bei Lagerung in einem konzentrierten Medium stabil ist und bei dessen Verdünnung schon bei relativ geringer mechanischer Beanspruchung zerstört wird,

dass das zu immobilisierte Material von der Matrix (dem Kapselkern) vollständig umschlossen wird,

dass der Kapselkern von einer ihn vollständig umschließenden, mehrlagigen Hülle umgeben sein kann

dass die Hülle mindestens eine Schicht enthält, die mit der benachbarten darunterliegenden und/oder darüberliegenden kovalent und/oder elektrostatisch verbunden ist.

dass mindesten eine Lage der Hülle durch Beschichten mit einem Feststoff auf den Kapselkern aufgebracht wird,

dass mindesten eine Lage der Hülle durch eine membranbildende Flüssigkeit auf dem Kapselkern gebildet wird,

dass mindesten eine Lage der Hülle sowohl durch Komplexbildung als auch Beschichtung gebildet wird

2. Mikrokapsel nach Anspruch 1 **dadurch gekennzeichnet** dass die Substanz die die Kernmatrix bildet ein Stoff ist, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise kugelförmige Partikel geformt werden können.

3. Mikrokapsel nach Anspruch 1 oder 2 **dadurch gekennzeichnet** dass die Substanz die den zu immobilisierenden Stoff im Inneren der Kernmatrix umgibt ein Öl sein kann oder eine andere mit der Matrixsubstanz nicht mischbare Flüssigkeit wie z.B. ein Kohlenwasserstoff, ein Kohlenwasserstoffgemisch.

4. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 3 **dadurch gekennzeichnet** dass der zu immobilisierende Stoff mit einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet eine Suspension bildet.

5. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 4 **dadurch gekennzeichnet** dass der zu immobilisierende Stoff mit der einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet eine flüssig/flüssig Emulsion bildet.

6. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 5 **dadurch gekennzeichnet** dass die Kernmatrix oder mindestens eine Phase im Kapselkern einen Feststoff enthält

7. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 6 **dadurch gekennzeichnet** dass mindestens eine Phase im Kapselkern eine Flüssigkeit enthält

8. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 7 **dadurch gekennzeichnet** dass mindestens eine Phase im Kapselkern Zellen enthält

9. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 8 **dadurch gekennzeichnet** dass mindestens eine Phase im Kapselkern Mikroorganismen enthält

10. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 9 **dadurch gekennzeichnet** dass das Beschichten der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren erfolgt

11. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 10 **dadurch gekennzeichnet** dass sie ohne signifikante Einbußen an Funktionalität getrocknet werden kann

12. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 11 **dadurch gekennzeichnet** dass das Trocknen der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren erfolgt

13. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 12 **dadurch gekennzeichnet** dass beim ihrem Trocknen in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren in die Kolonne zusätzlich ein Feststoff eingeblasen wird, der auf der Kapseloberfläche eine Membran bildet

14. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 13 dadurch gekennzeichnet dass alle Stoffe aus denen sie besteht lebensmittelzugelassen sein können

15. Mikrokapsel nach Anspruch 1 bis 14 bei deren Herstellung einige, mehrere oder alle der nachfolgenden Schritte durchgeführt werden, von denen auch einige Schritte mehrmals wiederholt werden können:

- Lösen oder Suspendieren des zu verkapselnden Materials in einem Grundstoff
- Vertropfen dieser Grundstoff-Suspension oder Lösung
- Füllen der Tropfen
- Versiegeln der Tropfen bei gleichzeitiger Fällung durch Umspülen der Kügelchen in einem Fällbad, das neben dem Fällreagenz auch eine ionische Polymerlösung enthält
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
- Umspülen der Kügelchen mit einer kationischen oder anionischen Polymerlösung und Ausbilden einer kationischen oder anionischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Waschen der Kügelchen mit einer Waschflüssigkeit
- Umspülen der Kügelchen mit einer anionischen oder kationischen Polymerlösung und Ausbilden einer anionischen oder kationischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
- Trocknen der Kügelchen
- Einbringen (Suspendieren) der getrockneten Kügelchen in ein konzentriertes Medium wie z.B. einem Gel
- Lagern der Kügelchen in diesem konzentrierten Medium über einen bestimmten Zeitraum